

Uso previsto

Determinazione quantitativa del fosforo inorganico nel siero utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

La misurazione del fosforo inorganico nel siero viene solitamente effettuata formando un complesso di fosfomolibdato e riducendolo a un complesso di colore blu molibdeno. Le metodiche differiscono per la scelta degli agenti riducenti: cloruro stannoso¹, fenilidrazina², acido aminonaftol-solfonico³, acido ascorbico⁴, p-metilaminofenol-solfato⁵, N-fenil-p-fenilendiammina⁶ e solfato ferroso⁷. Questi metodi presentano però instabilità del colore, fasi di deproteinizzazione e complessità di esecuzione⁸. L'aggiunta di un tensioattivo ha eliminato la necessità di preparare un filtrato privo di proteine, ha accelerato la produzione del colore, lo ha stabilizzato e ha semplificato la procedura. Molti dei componenti di questi reagenti erano instabili e dovevano essere conservati separatamente. La misurazione quantitativa dei complessi fosfomolibdati non ridotti è stata descritta per la prima volta da Simonsen nel 1946.⁹ Nel 1972 Daly ed Ertingshausen¹⁰ adattarono questa tecnica alla determinazione del fosforo inorganico. Nello stesso anno Amador e Urban¹¹ hanno ulteriormente modificato la procedura. Il metodo qui presentato è una modifica della procedura sopra descritta che utilizza un singolo reagente stabile che opera nell'intervallo UV.

Principio

Fosforo inorganico + H₂SO₄ + Molibdato di ammonio → Complesso fosfomolibdato non ridotto

Il fosforo inorganico reagisce con il molibdato di ammonio in ambiente acido, formando un complesso fosfomolibdato che assorbe la luce a 340 nm. L'assorbanza a questa lunghezza d'onda è direttamente proporzionale alla quantità di fosforo inorganico presente nel campione.

Reagenti

Molibdato di ammonio 0,48 mM, acido solforico 220 mM con tensioattivo

Precauzioni e pericoli

Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.

Pericoli:

Classificazione dei pericoli: Corrosione/irritazione cutanea (categoria 1), Gravi lesioni/irritazioni oculari (categoria 1), Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione singola:

apparato respiratorio (categoria 1), Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta: apparato respiratorio (categoria 1)

Indicazioni di pericolo: H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari, H319: Provoca grave irritazione oculare, H370: Provoca danni agli organi, H372: Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta

Consigli di prudenza:

Prevenzione: P260: Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol, P264: Lavare accuratamente le mani dopo l'uso, P270:

Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso, P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso

Reazione: P314: In caso di malessere, consultare un medico, P363: Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente, P301 + P330 + P331: IN CASO DI INGESTIONE: Sciacquare la bocca. NON provocare il vomito, P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON

LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia, P304 + P340: IN

CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione, P305+ P351+

P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare,

P307+ P311: In caso di esposizione, contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

Conservazione: P404: Conservare in un recipiente chiuso.

Smaltimento: P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-P7516) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**



Parola segnaletica:
Pericolo

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti pronti per l'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Conservare i reagenti a temperatura ambiente (2- 8°C). Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

1. La lettura dell'assorbanza del reagente in acqua è superiore a 0,500 a 340 nm.
2. Il reagente non raggiunge i valori di controllo indicati.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. I campioni devono preferibilmente contenere siero non emolizzato.
2. Non utilizzare il plasma perché gli anticoagulanti possono produrre valori falsamente bassi.¹²
3. Un campione emolizzato può dare valori falsamente elevati.
4. È necessario rimuovere tempestivamente il siero dal coagulo di globuli rossi.¹³
5. Il fosforo inorganico del siero resta stabile per una settimana se refrigerato e per tre settimane se congelato.^{13,14}

Interferenze

Per un elenco completo delle sostanze che interferiscono con la misurazione del fosforo inorganico, si rimanda a Young, et al.¹⁵

Materiali in dotazione

Reagente per fosforo inorganico

Kit reagenti (UV) Fosforo inorganico Pointe

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Calibrazione

Utilizzare il calibratore chimico Pointe (numero di catalogo C7506-50). La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 14 giorni.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo normali e patologici con concentrazioni note di fosforo inorganico. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Unità del SI

Per avere risultati espressi in unità del SI (mmol/L), moltiplicare i valori in mg/dl per 0,323.

Esempio: $3,4 \text{ mg/dl} \times 0,323 = 1,09 \text{ mmol/L}$.

Limitazioni

Non utilizzare detergenti contenenti fosfati per la pulizia della vetreria utilizzata in questa procedura. I campioni lipemici e itterici richiedono un bianco di siero. Per ottenere la massima accuratezza, è necessario analizzare un bianco di siero con ogni campione.

Valori attesi

Adulti: 2,5-4,8mg/dl¹⁶

Bambini: 4,0-7,0mg/dl¹⁷

I valori diminuiscono durante il periodo mestruale e dopo i pasti.¹⁷ Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di normalità per la procedura.

Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 0,0- 12,0 mg/dL.
2. Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Fosforo
N	96
Fosforo medio (mg/dL)	4,30
Intervallo (mg/dL)	0,5-9,9
Deviazione standard	1,83
Analisi di regressione	$y = 0,936x + 0,25$
Coefficiente di correlazione	0,9724

3. Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.¹⁸

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	3,78	7,31	10,89	3,81	7,38	11,06
Deviazione standard	0,04	0,04	0,04	0,13	0,31	0,31
Coefficiente di variazione (%)	1,1%	0,6%	0,4%	3,5%	4,2%	2,8%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0,0 mg/dL

Riferimenti bibliografici

1. Osmond, M.F., Bull. Soc. Chim. 47:745 (1887).
2. Taylor, A.E., Miller, C.W., J. Biol., Chem 18:215 (1914).
3. Fiske, C.H., Subbarow, Y., J. Biol. Chem. 66:275 (1925).
4. Lowry, O.H., Lopez, J.A., J. Biol. Chem. 162:421 (1946).
5. Power, M.H., Standard Methods of Clinical Chemistry New York, Academic Press, (1953).
6. Dryer, R.L., et al, J. Biol. Chem. 225:177 (1957).
7. Taussky, H.H., Shorr, E., J. Biol. Chem. 202:675 (1953).
8. Martinek, R.G., J. Am. Med. Tech. 32:337 (1970).
9. Dryer, R.L., et al, J. Biol. Chem. 166:747 (1946).
10. Fabiny, D.L., Ertingshausen, G., Clin. Chem. 18:263 (1972).
11. Amador, E., Wacker, W., Clin. Chem. 18:601 (1972).
12. Goldenberg, H. Fernandez, A. Clin. Chem. 12:871 (1966).
13. Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, New York, Harper & Row, pp.122:143 (1964).
14. Hansk, A., Kao, J., Clin. Chem. 14:58 (1968).
15. Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D, (1975).
16. Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p.728 (1974).
17. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.917 (1976).
18. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	PHOS	N.	227	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Fosforo inorganico			Nome etichetta:	PHOS
Tipo reazione:	End Point			Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	340			Lungh. d'onda sec.:	
Unità:	mg/dL			Decimale	0.1
T. bianco:	10	12		T. reazione:	27 29
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	1.5 ul	--- ul	--- ul	R1:	150 ul --- ul
Decremento :	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	--- ul -- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> automat.	Ripetiz.	R4:	--- ul --- ul
Regolazione pendenza/ Offset					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	0	12	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Kit reagenti (UV) Fosforo inorganico Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore						
		Pos.				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
Reagente/calibrazione						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	PHOS	0	mg/dL
Cal. chim.	*	*	*	PHOS	*	mg/dL
Configurazione calibrazione						
Analisi chim.:	PHOS					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	Two-Point Linear					
Fattore:		Repliche: 2				
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	336	336		h		
Diff. pendenza:		---	DS:		---	
Sensibilità:		---	Ripetibilità:		---	
Coeff. deter.:		---				
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio fiasco		<input type="checkbox"/> Cambio lotto		<input type="checkbox"/> Ora cal.		

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-P7516-174



Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N. catalogo



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* **Rx Only:** utilizzare solo su prescrizione